

明細書

サリチル酸アミド誘導体

技術分野

本発明は、新規なサリチル酸アミド誘導体、その製造方法及びその誘導体を有効成分とする薬剤に関する。さらに詳しく述べば、NF- κ B活性阻害作用を有し、抗炎症剤、免疫抑制剤として有用な新規なサリチル酸アミド誘導体、その誘導体の製造中間体、それらの製造方法、及び前記サリチル酸アミド誘導体またはその塩を有効成分とする医薬に関する。

10 背景技術

抗炎症剤として、従来、ステロイド剤、プロスタグランジン合成阻害剤等が使用されている。また、免疫抑制剤として、シクロスボリンやFK506（タクロリムス）等が使用されている。しかしこれらの薬剤は効果と副作用の点で問題点が指摘されている。

15 特に一般に強い副作用を有するものが多く、その抗炎症剤、免疫抑制剤としての使用に当たって大きな制約となっている。

そこで、副作用が少なく、かつ新規な化学構造及び作用機作を有する新規薬剤を発見または創製することが望まれており、従来使用されている薬剤とは異なる化学構造及び作用機作を有し、かつ優れた抗炎症活性、免疫抑制活性を示す新しい化合物の発見または創製をするための研究が行なわれている。

NF- κ Bは、免疫グロブリン κ 鎖遺伝子のエンハンサーに結合する核蛋白質として同定され (Cell 46, 705-716, 1986)、当初はB細胞に特異的な転写因子と考えられたが、その後各種の細胞に存在することが明らかになった。NF- κ Bは2つのサブユニットからなるヘテロ2量体であり、約300のアミノ酸のRelホモジードメイン（RHD）を有する

p50、p52とRelA、c-Rel、RelBのさまざまな組み合わせで構成されている (Annu. Rev. Immunol., 14, 649-681, 1996)。 NF- κ Bは、生体防御反応の中心的な転写因子で、NF- κ Bにより誘導される遺伝子は免疫グロブリン以外にサイトカイン（IL-1、IL-2、IL-6、IL-8、TNFなど）、細胞接着因子（E-セレクチン、ICAM-1、VCAM-1など）、一酸化窒素（NO）合成酵素、Fasリガンドなど免疫応答や炎症反応に深く関わっているものが多い (Cell, 87, 13-20, 1996)。

NF- κ Bの活性化を引き起こす因子としては、TNF- α 以外にIL-1、抗原刺激、TPA、UV、活性酸素などが知られている (Annu. Rev. Immunol., 12, 141-179, 1994)。そこで、細胞をTNF- α 等で刺激し、その時誘導されるNF- κ Bの活性化を阻害する低分子物質を見出すれば、抗炎症剤、免疫抑制剤に発展することができる。

15 発明の開示

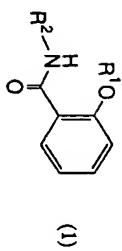
本発明者らは、前記課題に鑑み銳意スクリーニングを重ねた結果、特定構造を有する新規なサリチル酸アミド誘導体、すなわち後述の式 (1a) で示される化合物 (DHM2EQ) 及び式 (1b) で示される化合物 (DHM3EQ) がNF- κ Bの活性化阻害作用を有することを見出し本発明を完成した。

すなわち、本発明は以下の新規なサリチル酸アミド誘導体、それらの製造方法及びそれらを有効成分とする医薬を提供するものである。

[1] 式 (1)

で示される化合物である前項1記載のサリチル酸アミド誘導体。

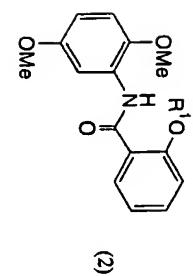
[3] 式(2)



[式中、R'は水素原子、またはC 2～4のアルカノイル基を表わし、

R²は、次式(A)、(B)、(C)、(D)、(E)、(F)または

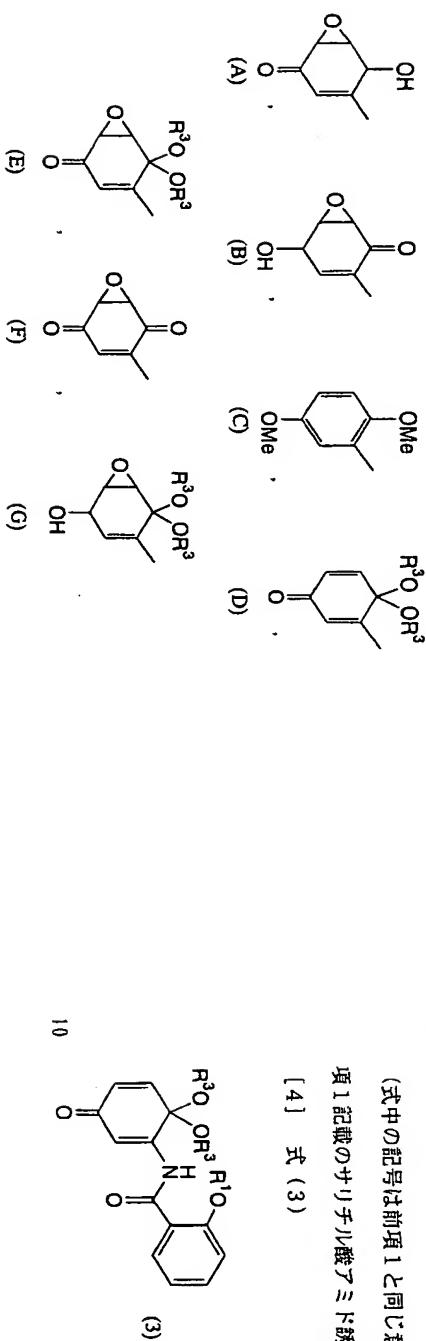
(G)で示される基を表わし：



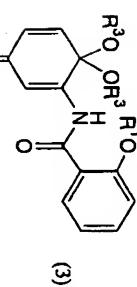
5

(式中の記号は前項1と同じ意味を表わす。)で示される化合物である前項1記載のサリチル酸アミド誘導体。

[4] 式(3)

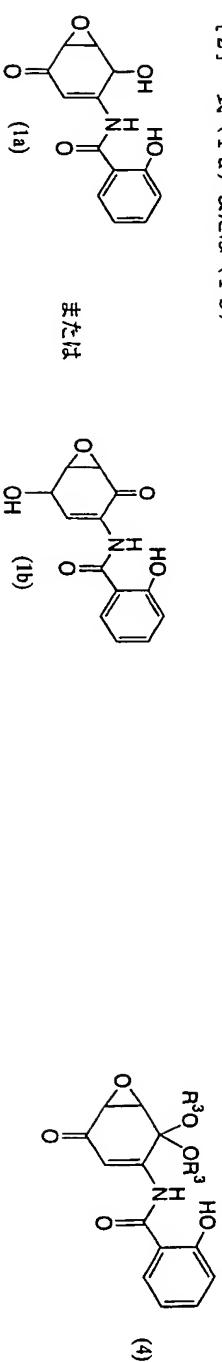


10



(式中の記号は前項1と同じ意味を表わす。)で示される化合物である前項1記載のサリチル酸アミド誘導体。

[5] 式(4)

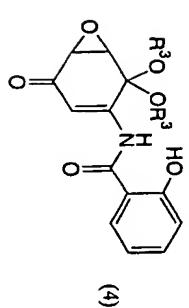


10 で示されるサリチル酸アミド誘導体。

[2] 式(1a)または(1b)

15 で示されるサリチル酸アミド誘導体。

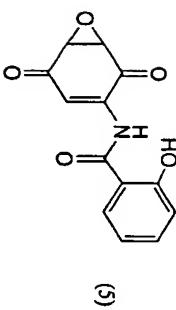
[5] 式(4)



(式中の記号は前項1と同じ意味を表わす。)で示される化合物である前

項1記載のサリチル酸アミド誘導体。

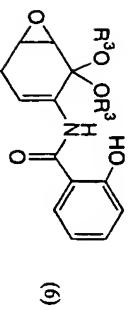
[6] 式(5)



5

(式中の記号は前記と同じ意味を表わす。)で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。

[7] 式(2)



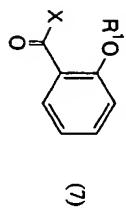
(6)

10

(式中の記号は前項1と同じ意味を表わす。)で示される化合物である前

項1記載のサリチル酸アミド誘導体。

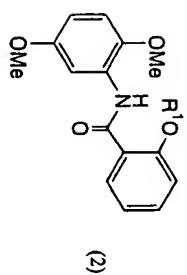
[8] 2, 5-ジメトキシアニリンを式(7)



(7)

(式中、R^1は前項1と同じ意味を表わし、Xはハログン原子表わす。)
で示されるO-アルカノイルサリチロイルハライドと反応させることを得

微する式(2)

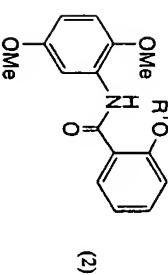


(2)

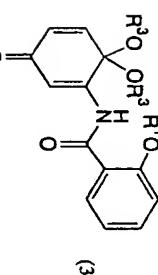
10

(式中の記号は前記と同じ意味を表わす。)で示されるサリチル酸アミド誘導体を式C₁H₁I(OAc), (式中、Acはアセチル基を表わす。)で示される化合物の存在下、R^3OH (R^3はC1~4のアルキル基である。)で示されるアルカノールと反応させることを特徴とする式(3)

15



(3)



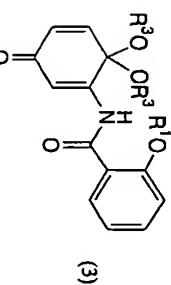
(1)

(式中、R^1は前項1と同じ意味を表わし、Xはハログン原子表わす。)

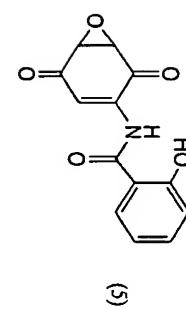
で示されるO-アルカノイルサリチロイルハライドと反応させることを得

(式中の記号は前記と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。

[10] 式 (3)



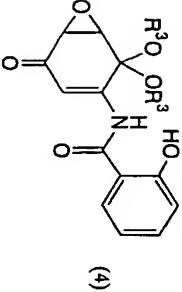
5



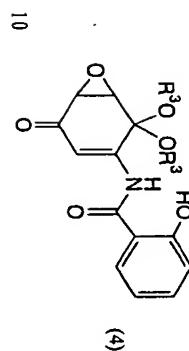
5

(式中の記号は前記と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体を脱ジアルキルケタール化反応に付することを特徴とする式 (5)

(式中の記号は前項1と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体をエポキシ化反応に付することを特徴とする式 (4)



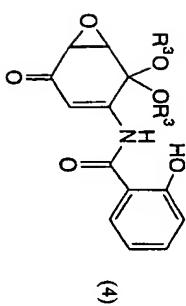
10



10

(式中の記号は前記と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。

[11] 式 (4)

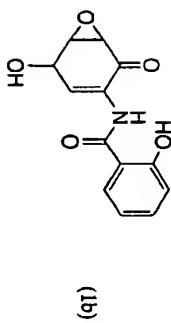
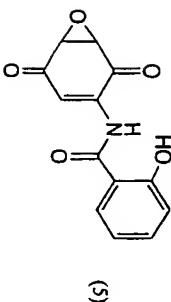


15

(式中の記号は前記と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。

8

[13] 式(5)

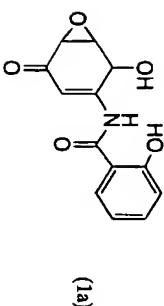


で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。

[15] 前項2に記載の式(1a)または(1b)で示されるサリチル酸アミド誘導体またはその塩を有効成分とする薬剤。

[16] 前項2に記載の式(1a)または(1b)で示されるサリチル酸アミド誘導体またはその塩を有効成分とするNF- κ B活性化阻害剤。

[17] 前項2に記載の式(1a)または(1b)で示されるサリチル酸アミド誘導体またはその塩を有効成分とする抗炎症剤または免疫抑制剤。



10 剂。

図面の簡単な説明

10 で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。
[14] 式(6)

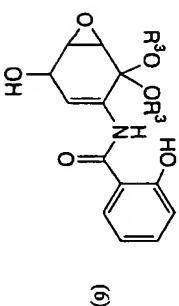


図1(A)及び(B)は、各々DHM2EQ&UDHM3EQのNF- κ B産生抑制活性を示すグラフである。

15 図2(A)及び(B)は、各々DHM2EQ&UDHM3EQのマウスのコラーゲン誘発筋炎に対する効果を示すグラフである。

発明の詳細な説明

前記式(1)のR'中の中のR'が表わすC1~4のアルキル基としては、メチル、エチル、プロピル、ブチル基およびこれらの異性体基が挙げられ、メチル基、エチル基が好ましい。

20 前記式(2)、(3)中、R'が表わすC2~4のアルカノイル基として
ド誘導体を脱ジアルキルケタール化反応に付することを特徴とする式(1)
b)
は、アセチル、プロピオニル、ブタノイル基及びこれらの異性体基が挙げ

られ、アセチル基が好ましい。

前記式(7)中のXが表わすハロゲン原子としてはフッ素、塩素、臭素及びヨウ素原子が挙げられ、塩素原子、臭素原子が好ましい。

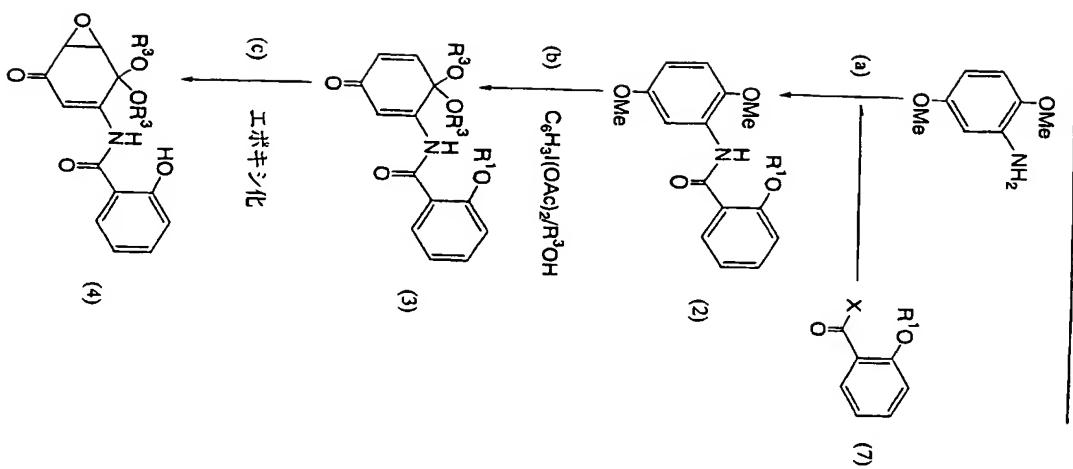
[本発明化合物の製造方法]

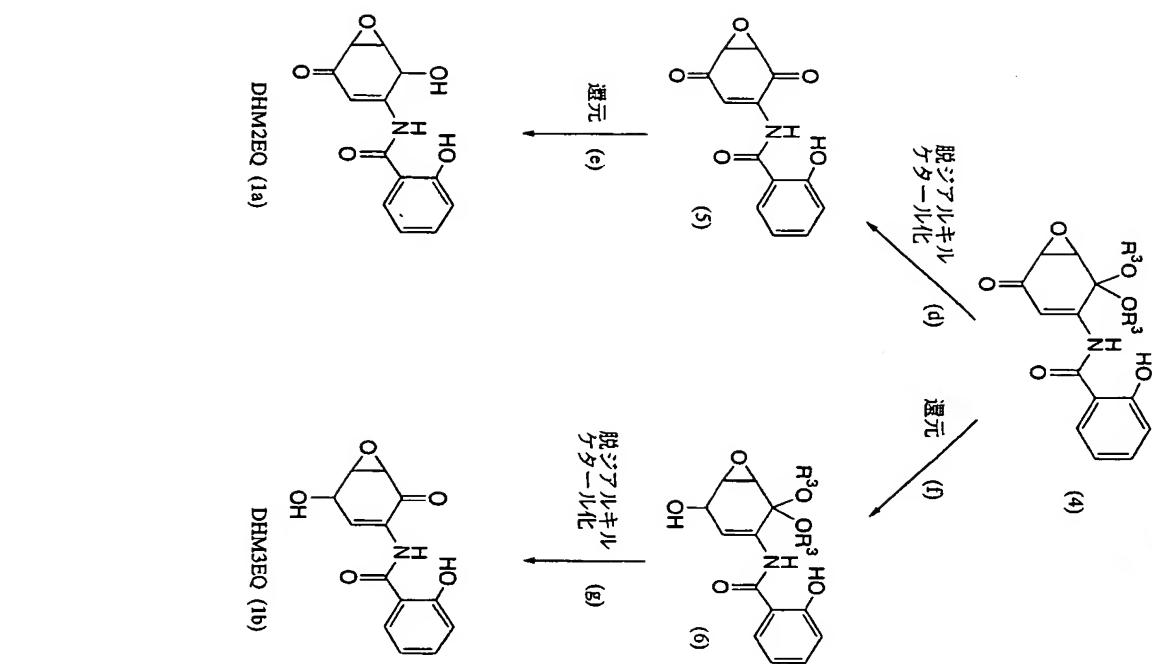
5 本発明の化合物(サリチル酸アミド誘導体)は、Wipfらの合成法(Synthesis, 12号, 1549~1561頁, 1995年)に準じて製造することができる。

次に本発明化合物の製造方法を下記の反応工程式に基いて説明する。

以下の工程中、式(1a)及び(1b)で示される化合物及び式(2)

10 ~ (6)で示される製造中間体化合物は新規化合物である。



DHM2EQ, DHM3EQの製造ルート（続き）

工程 a : N - (2-アルカルノイルベンゾイル) - 2, 5-ジメトキシアニリンの調製
 2, 5-ジメトキシアニリンを溶媒（ビリジンなど）に溶解し、-7.8
 ~5.0℃、好ましくは氷冷下で、式(7)のO-アルカルノイルサリチロイ
 ルハライドの酢酸エチル溶液を加え、搅拌下で反応させる。水を加えて
 反応を停止させた後、酢酸エチルを加え、塩酸、水、重曹水、水で順次洗
 淨し、乾燥後、減圧濃縮、真空乾燥することにより式(2)で示されるN
 -(2-アルコキシベンゾイル)-2, 5-ジメトキシアニリン化合物が
 得られる。この化合物は精製せず、次の工程に使用できる。

工程 b : 3-(O-アルカルノイルサリチロイルアミド)-4, 4-ジアル
 コキシ-2, 5-シクロヘキサジエノン化合物の調製

上記で得られた式(2)の化合物をメタノールなどの溶媒に溶解し、-
 2.0~5.0℃、好ましくは氷冷下、ジアセトキシヨードベンゼンを加え、
 室温で搅拌下反応させる。減圧濃縮後、酢酸エチルを加え、重曹水、食塩
 水で洗浄し、溶剤を減圧濃縮して得られた残渣をカラムクロマトグラフィ
 ーにて精製することにより、式(3)で示される3-(O-アルカルノイル
 サリチロイルアミド)-4, 4-ジアルコキシ-2, 5-シクロヘキサジ
 エノン化合物が得られる。

工程 c : 5, 6-エポキシ-4, 4-ジアルコキシ-3-サリチロイルア
 ミド-2-シクロヘキセノン化合物の調製

式(3)で示される3-(O-アルカルノイルサリチロイルアミド)-
 4, 4-ジアルコキシ-2, 5-シクロヘキサジエノンを溶剤（テトラヒ
 ドロフラン、メタノールなど）に溶解し、-2.0~5.0℃、好ましくは氷
 冷下、過酸化水素水及び氷酸化ナトリウムを加え、搅拌しながら反応させ
 る。反応液に酢酸エチルを加え、塩酸溶液、チオ硫酸ナトリウム水溶液、
 食塩水で順次洗浄し、乾燥後、真空乾燥する。残存する原料化合物を除去

するため、残渣をアセトンに溶解し、p-トルエンスルホン酸を加え、室温で搅拌して原料化合物を分解する。メタノールを減圧留去して得られた残渣に酢酸エチルを加え、水で洗浄する。酢酸エチル層を乾燥して得られた残留物をカラムクロマトグラフィーにて精製して式(4)で示される

5 5, 6-エポキシ-4, 4-ジアルコキシ-3-サリチロイルアミド-2
-シクロヘキセン化合物が得られる。

工程d: 5, 6-エポキシ-2-サリチロイルアミド-2-シクロヘキセン-1, 4-ジオンの調製

式(4)の5, 6-エポキシ-4, 4-ジアルコキシ-3-サリチロイルアミド-2-シクロヘキセン化合物を塩化メチレンに溶解し、氷冷下

10 無機酸または有機酸(三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体など)を加え、搅拌しながら反応させる。反応液に溶剤(酢酸エチルなど)を加え、水で洗浄し、酢酸エチル層を濃縮した後、得られた残渣をメタノールで洗浄して式(5)で示される5, 6-エポキシ-2-サリチロイルアミド-2-シクロヘキセンが得られる。

15 工程e: 5, 6-エポキシ-4-ヒドロキシ-2-サリチロイルアミド-2-シクロヘキセン(DHM2EQ)の調製

式(5)で示される3, 3-ジアルコキシ-4, 5-エポキシ-6-ヒドロキシ-2-サリチロイルアミドシクロヘキセンを溶剤(アセトンなど)に溶解し、p-トルエンスルホン酸を加え、室温で搅拌反応させる。

20 反応液に溶剤(酢酸エチルなど)を加え、水で洗浄し、溶剤層を乾燥し、減圧濃縮して、精製して、式(1b)の5, 6-エポキシ-4-ヒドロキシ-2-サリチロイルアミド-2-シクロヘキセン(DHM3EQ)を得ることができる。

式(5)で示される5, 6-エポキシ-2-サリチロイルアミド-2-シクロヘキセン-1, 4-ジオンを、溶媒(メタノール、エタノール、THFなど)に懸濁し、-78~50℃、好ましくは冰冷下、還元剤(水素化ホウ素ナトリウムなど)を加え反応させる。反応液に溶剤(酢酸エチル、塩化メチレンなど)を加え、塩酸、水で順次洗浄し、溶剤層を乾燥後、減圧濃縮して、メタノールにて懸濁搅拌洗浄して、式(1a)で示される5, 6-エポキシ-4-ヒドロキシ-3-サリチロイルアミド-2-

25 シクロヘキセン(DHM2EQ)が得られる。

工程f: 3, 3-ジアルコキシ-4, 5-エポキシ-6-ヒドロキシ-2-

-サリチロイルアミドシクロヘキセンの調製

式(4)の5, 6-エポキシ-4, 4-ジアルコキシ-3-サリチロイルアミド-2-シクロヘキセン化合物をメタノールなどの溶剤と重曹水混合溶液に溶解し、-78~50℃、好ましくは、氷冷下、還元剤(水素化ホウ素ナトリウムなど)を加え、搅拌下に反応させる。反応液に溶剤(酢酸エチルなど)を加え、搅拌下に反応させる。反応液に溶剤、真空乾燥し、カラムクロマトグラフィーなどで精製して、式(6)で示される3, 3-ジアルコキシ-4, 5-エポキシ-6-ヒドロキシ-2-サリチロイルアミドシクロヘキセンを得る。

工程g: 5, 6-エポキシ-4-ヒドロキシ-2-サリチロイルアミド-2-シクロヘキセン(DHM3EQ)の調製

式(6)で示される3, 3-ジアルコキシ-4, 5-エポキシ-6-ヒドロキシ-2-サリチロイルアミドシクロヘキセンを溶剤(アセトンなど)に溶解し、p-トルエンスルホン酸を加え、室温で搅拌反応させる。

20 反応液に溶剤(酢酸エチルなど)を加え、水で洗浄し、溶剤層を乾燥し、減圧濃縮して、精製して、式(1b)の5, 6-エポキシ-4-ヒドロキシ-2-サリチロイルアミド-2-シクロヘキセン(DHM3EQ)を得ることができる。

20 [薬理活性]

本発明化合物の生物学的活性はDHM2EQ及びDHM3EQについて以下の試験により確認された。

A) NF- κ B活性化阻害活性

NF- κ B產生抑制活性は以下に示すルシフェラーゼ・レポーター・ジーン・アッセイ(luciferase reporter gene assay)により測定した。

[ルシフェラーゼ・レポーター・ジーン・アッセイ(luciferase reporter

gene assay)]

ルシフェラーゼDNAを用いるレポーターを作製し、プロモーター／レポーター／ κ B阻害活性を測定した。

1) プラスミド (plasmid)

5 ルシフェラーゼ・アッセイ (luciferase assay) のプラスミド (plasmid) として 1g κ 遺伝子由来の $3 \times \kappa$ B 及び HSV-TK プロモーター (promoter) にホタル由来ルシフェラーゼ・ジーン (luciferase gene) を連結した $3 \times \kappa$ B TK-Luc (東京大学医科学研究所、井上純一郎 博士より供与) を用いた。また、 β -ガラクトシダーゼ・アッセイ (β -galactosidase assay) には、 β -アクチン・プロモータ (β -actin promoter) に β -ガラクトシダーゼ遺伝子 (β -galactosidase gene) を連結したプラスミド (plasmid) (東京大学医科学研究所、井上純一郎 博士より供与) を用いた。

10 2) トランスフェクション (transfection) 及びルシフェラーゼ・アッセイ (luciferase assay)

トランスフェクション (transfection) はDEAE・デキストラン法 (DEAE-Dextran method) で行なった。 2×10^6 cellsの細胞を $1 \times \text{TBS}$ (Tris-HCl (2.5 mM), NaCl (137 mM), KCl (5 mM), Na_2HPO_4 (0.5 mM)) で1回洗浄し、 $1\mu\text{g}$ のプラスミド (plasmid) を含むトランスフェクション・バッファ (transfection buffer) ($2 \times \text{TBS}$ ($200\mu\text{l}$), $100 \times \text{Ca}^{2+} \cdot \text{Mg}^{2+}$ (CaC₂ · 2 H₂O) (7.8mM , $4\mu\text{l}$), MgCl₂ · 6 H₂O (7.6mM), DEAE-Dextran ($1\text{mg}/\text{ml}$, $200\mu\text{l}$) 中に、1

0分ごとタッピング (tapping) しながら 30 分間室温でインキュベートした。その後、 $1 \times \text{TBS}$ で洗浄し、12個のウェルプレート (well plate) (costar: N.Y., U.S.A.) に 1×10^6 cells/wellで撒き、 37°C で

15 インキュベートした。翌日、種々の濃度のDHEQまたはDHM3E Qを添加し、2時間インキュベートした後、さらにTNF- α ($20\text{ng}/\text{ml}$) を添加し、6時間インキュベートした。細胞を3500 rpm、5分間遠心し、上清を除去後、リシス・バッファ (lysis buffer) (Tris-HCl (2.5 mM, pH 7.8), DTT (2 mM), 1, 2-ジアミノクロヘキサン-N, N', N'', N-四酢酸 (2 mM), 10%グリセリン, 1%トリトンX-100 (Triton X-100) を $50\mu\text{l}$ 加え、水中で30分可溶化した。つぎに、15000 rpm、5分間遠心し、上清をサンプルとした。

20 10 μl のサンプルに対し、 $100\mu\text{l}$ の発光基質溶液 (トリシン (Tricine) (2.0 mM), (MgCO_3) · 4Mg(OH)₂ · 5H₂O (1.07 mM), MgSO₄ (2.67 mM), EDTA (0.1 mM), DTT (33.3 mM), Coenzyme A (27.0 μM), ルシフェリン (luciferin) (4.70 μM), ATP (5.30 μM) を加え、発光量をLumat LB9501 (Berthold: Bad Wildbad, Germany) で定量した。さらに、測定値を β -ガラクトシダーゼ・アッセイ (β -galactosidase assay) により補正し、ルシフェラーゼ (luciferase) の活性値とした。

25 3) β -ガラクトシダーゼ・アッセイ (β -galactosidase assay) β -ガラクトシダーゼ (β -galactosidase) DNAはトランスフェクション (plasmid) を含むトランスフェクション・バッファ (transfection buffer) ($2 \times \text{TBS}$ ($200\mu\text{l}$), $100 \times \text{Ca}^{2+} \cdot \text{Mg}^{2+}$ (CaC₂ · 2 H₂O) (7.8mM , $4\mu\text{l}$), MgCl₂ · 6 H₂O (7.6mM), DEAE-Dextran ($1\text{mg}/\text{ml}$, $200\mu\text{l}$) 中に、10分ごとタッピング (tapping) しながら 30 分間室温でインキュベートした。その後、 $1 \times \text{TBS}$ で洗浄し、12個のウェルプレート (well plate) (costar: N.Y., U.S.A.) に 1×10^6 cells/wellで撒き、 37°C で

た。溶液が黄色く呈色したところで、 Na_2CO_3 (1M) を $250\mu\text{l}$ 加え、 420nm の吸収波長を分光光度計(日立製作所)にて測定した。

B) コラーゲン誘発関節炎抑制作用

5 タイプIIコラーゲンを等量のフロントのコンプリートアジュvantと共に乳化して $1.5\text{mg}/\text{ml}$ の投与液を作成した。これをマウスの尾根部の皮内に 0.1ml 接種して感作した ($150\mu\text{g}/\text{マウス}$)。3週間後に同様の操作方法で乳化したタイプIIコラーゲンの 0.1ml をマウスの腹腔内に投与して追加免疫を行ない、関節炎を誘発させた ($150\mu\text{g}/\text{マウス}$)。

10 DHM2EQ及びDHM3EQの $2\text{mg}/\text{kg}$ または $4\text{mg}/\text{kg}$ の投与量で、6匹/群のマウスを用い初回免疫の日より $0.1\text{ml}/1.0\text{g}$ 体重の割合で3回/週、合計18回/ 6 週間、腹腔内投与した。なお、対照群(Control群、6匹/群)には同様のスケジュールで0.5%CMC溶液を投与し、コラーゲン関節炎を誘発しない正常(Normal)群(4匹/群)もあ

15 わせて設けた。コラーゲン誘発関節炎の抑制効果は前肢及び後肢の発赤、腫脹及び強直の程度による0~4のスコア(四肢の合計の最高点は16点)により評価した。スコア0は全く症状がみられない場合、スコア1は四肢の指など小関節が1本のみ発赤、腫脹を示す場合、スコア2は小関節が2本以上、あるいは手首、足首などの比較的大きな関節が発赤、腫脹を示す場合、スコア3は1本の手や足全体が発赤、腫脹を示す場合、さらにスコア4は1本の手や足の全体的な腫脹が最大限に達し、しかも関節の強直を伴っていると判断した場合をそれぞれ示す。結果を図2(A)、図2(B)に示す。

20 図1(A)及び(B)の結果から明らかのように、本発明による新規化合物DHM2EQでは $1\mu\text{g}/\text{ml}$ から(図1(A))、及びDHM3EQでは $10\mu\text{g}/\text{ml}$ (図1(B))でTNF- κ Bの活性化を阻害した。

また、図2(A)、図2(B)から明らかなように、DHM2EQ及びDHM3EQ、特にDHM2EQは慢性関節リウマチのマウス動物実験モデルである、コラーゲン誘発関節炎を抑制することからイン・ビオ(in vivo)においての有効性も証明された。

5 産業上の利用可能性

〔医薬としての適用〕

前述のように本発明の化合物のDHM2EQ及びDHM3EQは、NF- κ B活性化阻害活性、及びイン・ビオ(in vivo)でコラーゲン誘発関節炎抑制作用を示した。したがって式(1a)及び(1b)で示される化合物は抗炎症剤、免疫抑制剤として有用であると考えられる。

前記式(1a)及び(1b)で示される化合物は、弱酸性物質であり、それらの塩としては第4級アンモニウム塩などの有機塩基の塩、あるいは各種金属との塩、例えばナトリウムのようなアルカリ金属との塩があり、これらの中の塩の形でも利用できる。

式(1a)及び(1b)で示される化合物またはその塩は、経口投与のための固体組成物や液体組成物、非経口投与のための注射剤、外用剤、坐剤等に調整して投与することができる。投与量は年齢、体重、症状、治療効果、投与方法、処理時間等により異なるが、通常成人1日当たり約 $1\text{mg} \sim 100\text{mg}$ を1日1~数回にわけて投与する。

経口投与のための固体組成物には、錠剤、丸剤、カプセル剤、散剤、顆粒剤等が含まれる。組成物は、常法に従つて、不活性な稀釈剤以外の添加物、例えは潤滑剤、崩壊剤、溶解補助剤を含有してもよい。錠剤または丸剤は必要により胃溶性あるいは腸溶性物質のフィルムで被覆していてもよ

25 い。

経口投与のための液体組成物は、葉剤的に許容される乳化剤、溶媒剤、

シロップ剤、エリキシル剤等を含む。この組成物は、不活性な希釈剤以外に湿润剤、懸濁剤のような補助剤、甘味剤、風味剤、芳香剤、防腐剤を含有してもよい。

本発明による非経口投与のための注射剤には無菌の水性または非水性の溶媒剤、懸濁剤、乳濁剤が含まれる。注射剤には、さらに防腐剤、湿润剤、乳化剤、分散剤、安定化剤、溶解補助剤（例えば、グルタミン酸、アスパラギン酸）のような補助剤を含んでいてもよい。

非経口投与のためその他の組成物としては、外用液剤、軟膏、塗布剤、直腸内投与のための坐剤等が含まれる。

10

発明を実施するための最良の形態

次に実施例により本発明を更に詳細に説明するが、本発明は下記の実施例に限定されるものではない。

15 実施例 1 : N-(2-アセトキシベンゾイル)-2,5-ジメトキシアニリンの合成

2,5-ジメトキシアニリン(10.0g, 65.3mmol)をビリジン(1.00mL)に溶解し、氷冷下で5-シクロヘキサジエノンの合成

実施例 1 で得た、N-(2-アセトキシベンゾイル)-2,5-ジメトキシアニリン(19.8g)をメタノール(40.0mL)に溶解し、氷冷下で2,5-ジメトキシベンゼン(27.3g, 84.9mmol)を加え、室温で1時間搅拌した。反応液を減圧濃縮して得られた茶色シロップ状残渣に酢酸エチル(1L)を加え、5%重曹水(1L)、10%食塩水(1L)で洗浄した。酢酸エチル層を減圧濃縮して得られた茶色シロップ状残渣をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(1kg, ヘキサン/酢酸エチル=2/1)にて精製し、固体12.8gを得た。これをメタノール30mLにて懸濁搅拌洗浄し、表題化合物10.9gを白色固体として得た(収率: 2工程50%)。

融点: 150~152°C,

25 赤外線吸収スペクトル: ν_{max} (KBr) 3409, 1773, 1671, 1603, 1535, 1478, 1283, 1221, 1179 cm^{-1} ,

紫外線吸収スペクトル: λ_{max} (MeOH) nm (ϵ) 224 (18100), 309 (7890),

5 FABマススペクトル (m/z) : 316 (M+H)⁺,

¹H-NMRスペクトル (CDCl_3 , 400 MHz) : δ 2.37 (3H, s), 3.82 (3H, s), 3.87 (3H, s), 6.62 (1H, dd, J = 2.8 and 8.8 Hz), 6.84 (1H, d, J = 8.8 Hz), 7.17 (1H, d, J = 7.2 Hz), 7.37 (1H, t, J = 8.0 Hz), 7.52 (1H, d, J = 2.0 and 7.2 Hz), 7.99 (1H, dd, J = 2.0 and 8.0 Hz), 8.31 (1H, d, J = 2.8 Hz), 8.93 (1H, br s)。

紫外線吸収スペクトル： λ_{max} (MeOH) nm (ϵ) 250 (1900), 326 (1500),
 FAB マススペクトル (m/z) : 259 (M^-),

$^1\text{H-NMR}$ スペクトル (acetone-d₆, 400 MHz) : δ 3.91 (1H, dd, J = 2.4 and 4.0 Hz), 4.11 (1H, d, J = 4.0 Hz), 7.07 (1H, t, J = 8.4 Hz), 7.13 (1H, d, J = 8.4 Hz), 7.51 (1H, dt, J = 1.6 and 8.4 Hz), 7.61 (1H, d, J = 2.4 Hz), 8.06 (1H, dd, J = 1.6 and 8.4 Hz), 10.83 (1H, br s), 10.88 (1H, br s), 10.88 (1H, br s).

10 実施例5：DHM2EQの合成

5, 6-エボキシ-2-サリチロイルアミド-2-シクロヘキセン-1, 4-ジオン (81.8mg, 0.316mmol) を、メタノール (10mL) に懸濁し、氷冷下、水素化ホウ素ナトリウム (11.9mg, 0.316mmol) を加え、同温度で10分間搅拌した。反応液に酢酸エチル (50mL) を加え、15規定塩酸 (5.0mL) 、水 (5.0mL) で順次洗浄した。酢酸エチル層を芒硝乾燥した後、減圧濃縮して得られた薄茶色固体をメタノール (1mL) にて懸濁搅拌洗浄すると、DHM2EQ (45.3mg) が白色固体として得られた (収率: 7.2%)。

外観及び性質：白色粉末、弱酸性物質。

20 融点：185°C (分解)、

TLCのR_f値：0.45 (シリカゲル (Art. 1.05715, メルク社製) の

薄層クロマトグラフィーで展開溶媒としてクロロホルム-メタノール (1:1) で展開)、

赤外線吸収スペクトル： ν_{max} (KBr) 3360, 1663, 1634, 1609, 1526,

1204, 1071 cm⁻¹、
 $\text{紫外線吸収スペクトル}:\lambda_{\text{max}}$ (MeOH) nm (ϵ) 242 (8180), 262 (9190),

25 300 (7610),
 FAB マススペクトル (m/z) : 308 ($M+H$)⁺、

¹H-NMRスペクトル (CDCl₃, 400 MHz) : δ 2.13 (1H, d, J = 10.0 Hz), 3.27 (3H, s), 3.49 (1H, s), 3.63 (1H, s), 3.64 (3H, s), 3.64 (1H, overlapped), 4.76 (1H, dd, J = 2.0 and 10.0 Hz), 6.68 (1H, d, J = 2.0 Hz), 6.89 (1H, t, J = 7.6 Hz), 7.01 (1H, d, J = 7.6 Hz),

5 7.34 (1H, dd, J = 1.5 and 8.3 Hz), 7.43 (1H, t, J = 7.6 Hz), 8.23 (1H, s), 11.87 (1H, s),
¹H-NMRスペクトル (CD₃OD, 500 MHz) : δ 3.28 (3H, s), 3.51 (1H, dt, J = 2.4 and 4.8 Hz), 3.57 (3H, s), 3.63 (1H, d, J = 4.8 Hz), 4.68 (1H, t, J = 2.4 Hz), 6.68 (1H, t, J = 2.4 Hz), 6.91 (1H, dd, J = 0.4 and 8.4 Hz), 6.93 (1H, dt, J = 0.4 and 7.8 Hz), 7.36 (1H, dt, J = 2.0 and 7.8 Hz), 7.94 (1H, dd, J = 2.0 and 7.8 Hz).

実施例7:DHM3EQの合成

3, 3-ジメトキシ-4, 5-エポキシ-6-ヒドロキシ-2-サリチ

15 ロイルアミドシクロヘキセン (87.0mg, 0.283mmol) をアセトン (2m

l) に溶解し、p-トルエンスルホン酸 (5mg) を加え、室温で1時間
搅拌した。反応液に酢酸エチル (2.0ml) を加え、水 (1.5ml) で洗
浄した。酢酸エチル層を芒硝乾燥した後、減圧濃縮して得られた白色固体
を酢酸エチル (1ml) にて懸濁搅拌洗浄すると、DHM3EQ (55.1m

20 g) が白色固体として得られた (収率: 74%)。
 外観及び性質: 白色粉末、弱酸性物質、

融点: 17.8~18.2°C.

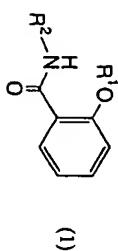
TLCのRf値: 0.36 (シリカゲル (Art. 1.05715, メルク社製) の薄層
クロマトグラフィーで展開溶媒としてクロロホルム-メタノール (1.0 :

25 1) で展開して測定)、

赤外線吸収スペクトル: ν_{max} (KBr) 3457, 3102, 1696, 1620, 1559,

請求の範囲

1. 式 (1)

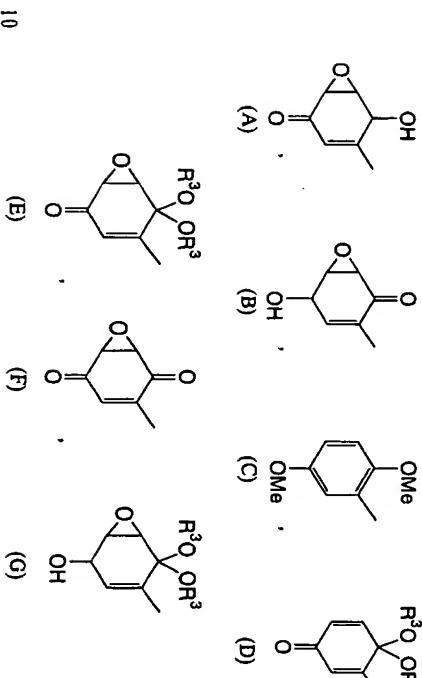


5

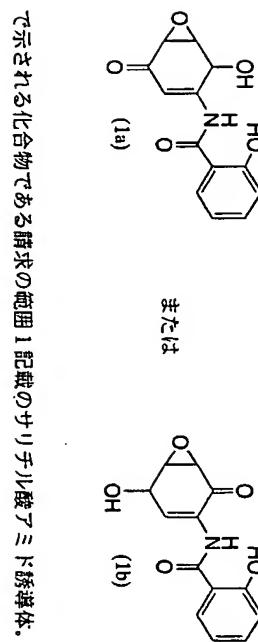
[式中、R¹は水素原子、またはC₂～4のアルカノイル基を表わし、

R²は、次式 (A)、(B)、(C)、(D)、(E)、(F) または

(G) で示される基を表わし：

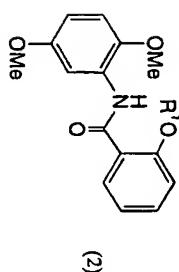


R³はC₁～4のアルキル基を表わす。] で示されるサリチル酸アミド誘導体。



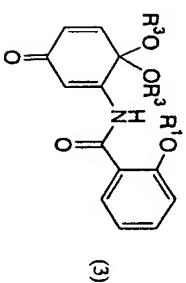
で示される化合物である請求の範囲1記載のサリチル酸アミド誘導体。

5 3. 式 (2)



[式中の記号は請求の範囲1と同じ意味を表わす。] で示される化合物である請求の範囲1記載のサリチル酸アミド誘導体。

4. 式 (3)

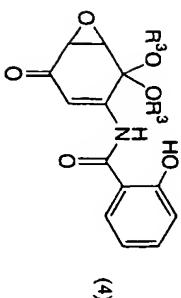


15

(式中の記号は請求の範囲1と同じ意味を表わす。) で示される化合物である請求の範囲1記載のサリチル酸アミド誘導体。

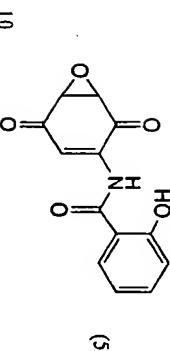
15 2. 式 (1a) または (1b)

5. 式 (4)



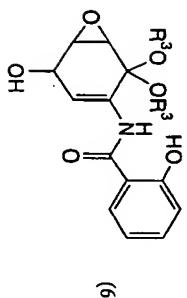
5 (式中の記号は請求の範囲1と同じ意味を表わす。) で示される化合物である請求の範囲1記載のサリチル酸アミド誘導体。

6. 式 (5)



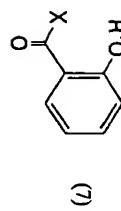
6. 式 (5) で示される化合物である請求の範囲1記載のサリチル酸アミド誘導体。

7. 式 (6)



7. 式 (6) で示される化合物である請求の範囲1記載のサリチル酸アミド誘導体。

8. 式 (2)



8. 2-, 5-ジメトキシアニリンを式 (7) で示されるO-アルカノイルサリチロイルハライドと反応させることを特徴する式 (2)



8. 式 (2) で示される化合物である請求の範囲1記載のサリチル酸アミド誘導体。

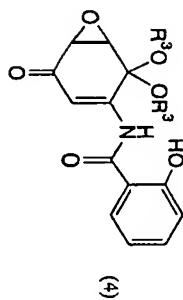
9. 式 (2)



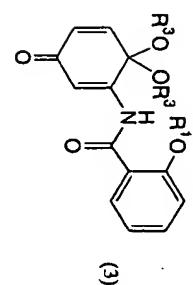
(式中の記号は請求の範囲1と同じ意味を表わす。) で示される化合物である請求の範囲1記載のサリチル酸アミド誘導体。

(式中の記号は請求の範囲 1 と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体を式 $C_6H_3I(OAc)_2$ (式中、Ac はアセチル基を表わす。) で示される化合物の存在下、 R^3OH (R^3 は C 1 ~ 4 のアルキル基である。) で示されるアルカノールと反応させることを特徴とする式 (3)

酸アミド誘導体を式 $C_6H_3I(OAc)_2$ (式中、Ac はアセチル基を表わす。) で示される化合物の存在下、 R^3OH (R^3 は C 1 ~ 4 のアルキル基である。) で示されるアルカノールと反応させることを特徴とする式 (3)

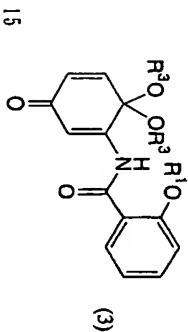


5
11. 式 (4)



10 (式中の記号は前記と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。

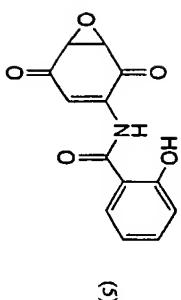
11. 式 (3)



15

(式中の記号は請求の範囲 1 と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体をエポキシ化反応に付することを特徴とする式 (4)

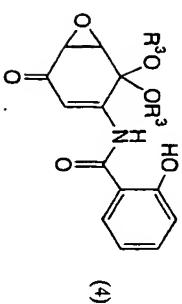
10 (式中の記号は請求の範囲 1 と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体を脱ジアルキルケタール化反応に付することを特徴とする式 (5)



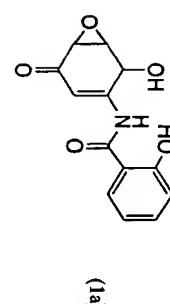
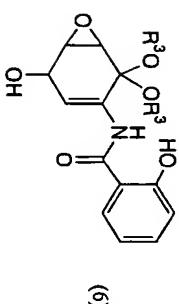
15

(式中の記号は前記と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。

12. 式 (4)

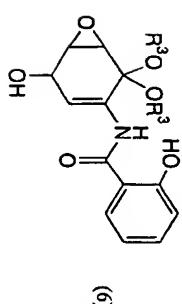


5 (式中の記号は請求の範囲1と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体を還元反応に付することを特徴とする式 (6)



で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。

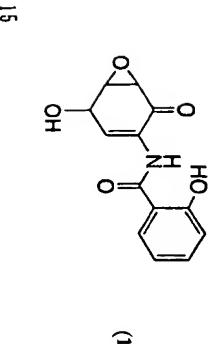
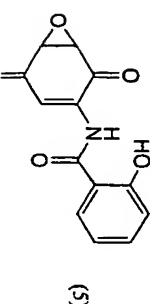
5
14. 式 (6)



10 (式中の記号は請求の範囲1と同じ意味を表わす。) で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。

(1 b)

13. 式 (5)



15 で示されるサリチル酸アミド誘導体の製造方法。

で示されるサリチル酸アミド誘導体を還元反応に付することを特徴とする式

(1 a)

チル酸アミド誘導体またはその塩を有効成分とする薬剤。

図面

図1

(A)

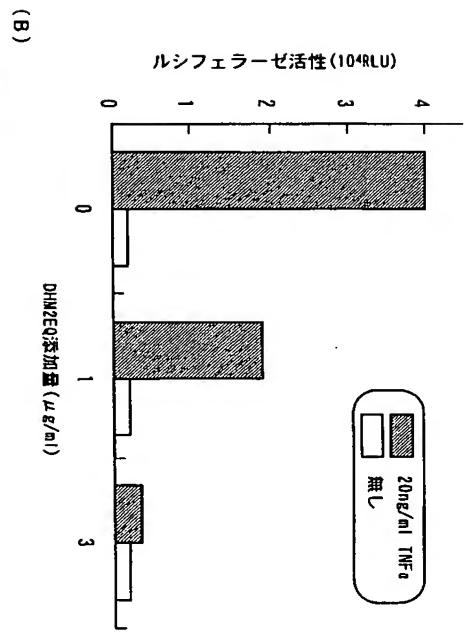
16. 請求の範囲2に記載の式(1a)または(1b)で示されるサリチル酸アミド誘導体またはその塩を有効成分とするNF- κ B活性化阻害剤。

5 制。

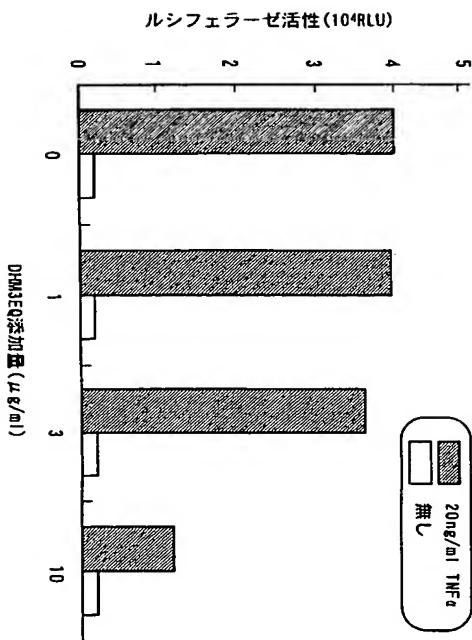
17. 請求の範囲2に記載の式(1a)または(1b)で示されるサリ

チル酸アミド誘導体またはその塩を有効成分とする抗炎症剤または免疫抑制剤。

10



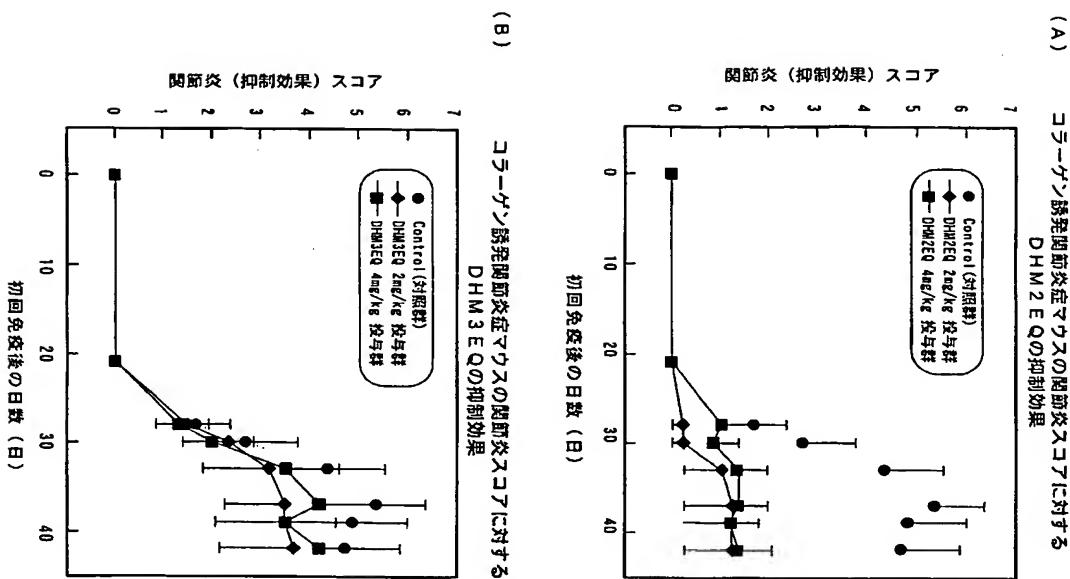
(B)



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP00/05332

図2



Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
PX	MATSUO, Naoki et al., "Synthesis of NF- κ B activation inhibitors derived from epoxiquinol C", Bioorg. Med. Chem. Lett., 2000, Vol.10 No. 9, pp. 865-869	1-17
A	TAYLO, Richard J. K. et al., "The synthesis of alleamycin, nisamycin, LL-C100370, and novel epoxiquinol and epoxiquinone analogs of manumycin A", Synthesis, 1998, No. 5, pp. 775-790	1-17
A	JP, 10-45738, A (Microbial Chem. Res. Found), 17 February, 1998 (17.02.98) (Family: none)	1-17
A	JP, 9-157266, A (Microbial Chem. Res. Found), 17 June, 1997 (17.06.97) (Family: none)	1-17

<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.	<input type="checkbox"/> See patent family annex.
<p>* Specific categories of cited documents:</p> <ul style="list-style-type: none"> "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "B" earlier document but published on or after the international filing date "C" document which may show doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "D" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "E" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed 	
Date of actual completion of the international search 07 November, 2000 (07.11.00)	Date of mailing of the international search report 21 November, 2000 (21.11.00)
Name and mailing address of the IMA/ Japanese Patent Office	Authorized officer
Faximile No.	Telephone No.

国際調査報告		国際出版番号 PCT/JP00/05332	国際出願番号 PCT/JP00/05332
C. (統計) 開通すると認められる文獻		D. 国際調査報告	
引用文獻の カテゴリー*		引用文獻名 及び一部の箇所が開通するときは、その開通する箇所の表示	開通する 請求の範囲の番号
A. 発明の属する分野 (国際特許分類 (IPC)) Int. C1, C07C237/38, C07C237/40, C07C231/02, C07C231/12, C07D303/22, C07D303/32, A61K31/609, A61P29/00, A61P37/06, A61P19/02, C07D303/14, A61K31/625			
B. 開通を行った届出資料 (国際特許分類 (IPC)) Int. C1, C07C237/38, C07C237/40, C07C231/02, C07C231/12, C07D303/22, C07D303/32, A61K31/609, A61P29/00, A61P37/06, A61P19/02, C07D303/14, A61K31/625			
最小限資料以外の資料で開通を行った分野に含まれるもの			
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名前、開通に使用した用語)			
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)			
C. 関連すると認められる文獻			
引用文獻の カテゴリー*	引用文獻名 及び一部の箇所が開通するときは、その開通する箇所の表示	開通する 請求の範囲の番号	
P X	MATSUMOTO, Naoki et al., "Synthesis of NF- κ B activation inh ibitors derived from epoxysyquinomicin C", Bioorg. Med. Chem. Lett., 2000, Vol. 10 No. 9, p. 865-869	1~17	
A	TAYLOR, Richard J. K. et al., "The synthesis of alisamycin, nisamycin, LL-C1037 α , and novel epoxysyquinol and epoxysyquo ne analogs of manumycin A', Synthesis, 1998, No. 5, p. 775-790	1~17	
【】 C欄の続きにも文獻が列挙されている。 □ パテントファミリーに関する別紙を参照。			

C. (統計) 開通すると認められる文獻	開通する 請求の範囲の番号
引用文獻の カテゴリー*	引用文獻名 及び一部の箇所が開通するときは、その開通する箇所の表示
A	JP, 10-45738, A (財團法人微生物化学研究会) 17.2月.1998(17.02.98) (ファミリーなし)
A	JP, 9-157266, A (財團法人微生物化学研究会) 17.6月.1997(17.06.97) (ファミリーなし)

E. 国際調査で使用した電子データベース (データベースの名前、開通に使用した用語)	
CAPLUS (STN), REGISTRY (STN)	
F. 国際出願の提出と公表の状況	
国際出願番号	提出日
日本国特許庁 (ISA/JP)	1998年8月15日
電気通信事業者 (PTO)	東京都千代田区霞が関三丁目4番3号
G. 国際出願金を完了した日	
国際出願金を完了した日	07.11.00
H. 国際調査報告の発送日	
21.11.00	
I. 特許庁審査官 (権限のある職員) 本部 本部 裁定課	
特許庁審査官 (権限のある職員)	-
4H	9049
J. 電話番号 03-3581-1101 内線 3443	

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.